p. c 1

(14)

ARCHIVES

DE

PARASITOLOGIE

Paraissant tous les trois mois

SOUS LA DIRECTION DE

RAPHAËL BLANCHARD

PROFESSEUR A LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS,
MEMBRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

27

EXTRAIT

Les tirés à part ne peuvent être mis en vente

SUR LES CORPUSCULES DU VACCIN
(*CYTORYCTES VACCINAE* GUARNIERI)

PAR

le Dr P. GORINI,

Libero docente d'hygiène à l'Université de Rome.

(PLANCHES II et III).

ABONNEMENT :

PARIS ET DÉPARTEMENTS : **30 fr.** | UNION POSTALE : **32 fr.**

PARIS

SOCIÉTÉ D'ÉDITIONS SCIENTIFIQUES

4, Rue Antoine Dubois, VIe

Téléphone 807.25

1901

Extrait des *Archives de Parasitologie*, IV, n° 2, page 240, année 1901

SUR LES CORPUSCULES DU VACCIN (1)

(*CYTORYCTES VACCINAE* GUARNIERI)

PAR

le Dr P. GORINI,

Libero docente d'hygiène à l'Université de Rome.

27

(PLANCHES II et III).

Dans un précédent travail (2) je me suis occupé d'établir la valeur des inoculations cornéennes sur le Lapin pour contrôler la pureté et l'activité du vaccin jennérien. Dans celui-ci, je me propose d'étudier la question relative aux corpuscules endocellulaires, qu'on observe dans l'épithélium antérieur de la cornée du Lapin, à la suite de l'inoculation cornéenne avec du virus vaccinal.

L'apparition de ces corpuscules, qui a été signalée pour la première fois par Guarnieri et L. Löffler, est maintenant un fait affirmé par tous les auteurs. Pour ma part, je puis déclarer que je les ai rencontrés dans toutes les cornées, inoculées avec plus de cinquante qualités de vaccin animal. Il y a encore de l'incertitude sur l'interprétation qu'on doit leur assigner. Ici, nous nous trouvons en présence d'une question semblable à celle qui a été soulevée à propos des inclusions cellulaires du cancer. Certains auteurs tels que Guarnieri (3), L. Pfeiffer (4), E. Pfeiffer (5), Monti (6),

(1) Les différentes parties de ce travail ont éte présentées, sans planches, à la « Reale Accademia dei Lincei » dans les séances du 1er avril, 1er juillet, 18 novembre 1900 et 6 janvier 1901.

(2) GORINI, Il controllo del vaccino mediante le inoculazioni corneali. *Archivio per le scienze mediche*, XXIII, p. 127, 1898.

(3) GUARNIERI, 1er Mémoire, *Archivio per le scienze mediche*, 1892, p. 403. — 2e Mémoire, *Atti del X Congresso medico intern. di Roma, Sezione patologia generale*, II, 1894, p. 125. — 3e Mémoire, *Clinica moderna*, 1897.

(4) L. PFEIFFER, *Die Protozoen als Krankheitserreger, Nachträge*. Jena, 1895; cf. p. 89. — Voir aussi : PENZOLDTS, *Handbuch der speziellen Therapie innerer Krankheiten*, 1897, p. 203.

(5) E. PFEIFFER, *Centralblatt für Bakteriol.*, XVIII, 1895, p. 769.

(6) MONTI, *Berliner klin. Wochenschrift*, XXI, 1894, Congress-Numero.

Clarke (1), Kurlov (2), Sicherer (3), Ruffer et Plimmer (4), Voigt (5), von Wasielewski (6), Bossalino (7), Musso (8), interprètent ces corpuscules comme des parasites (*Cytoryctes vaccinae* Guarnieri); d'autres y voient des altérations cellulaires soit d'origine leucocytaire, comme Salmon (9) et London (10), soit d'origine nucléaire, comme Ferroni et Massari (11), soit enfin d'origine cytoplasmique comme Hückel (12).

Les nombreux auteurs ont envisagé ces corpuscules à plusieurs points de vue, dans le but de révéler leur nature. Mais la durée de la discussion est là pour prouver que les arguments en faveur de l'une ou de l'autre opinion, ne sont pas décisifs. C'est pourquoi je me suis proposé d'étudier de plus près la question et d'essayer de la résoudre en me servant de procédés qui n'ont pas encore été employés. Il m'a semblé nécessaire d'établir tout d'abord la caractéristique des *Cytoryctes*.

Caractérisation des *Cytoryctes*. — Si nous examinons les travaux des précédents observateurs, qui soutiennent la spécificité des *Cytoryctes*, c'est-à-dire de tous les auteurs y compris Salmon et Hückel, nous voyons que tous se bornent à affirmer qu'on n'a jamais obtenu avec d'autres moyens des formes endocellulaires semblables à celles obtenues avec le vaccin, sans cependant indiquer la manière de différencier ces formations les unes des autres. Hückel donne un caractère distinctif fondé sur la coloration, mais si l'on considère la valeur absolument relative des caractères tirés de la coloration, l'observation de Hückel, au lieu de faciliter le diagnostic, le rend beaucoup plus incertain encore, puisqu'il

(1) Clarke, *Centralblatt für Bakteriol.*, XVII, 1895, p. 300.
(2) Kurlov, *Archives russes de pathologie*, etc., II, 1896, p. 120.
(3) Sicherer, *Münchener med. Wochensch.*, XLII, p. 793.
(4) Ruffer and Plimmer, *British med. Journal*, I, 1894.
(5) Voigt, *Münchener med. Wochensch.*, XLIV, 1897, p. 21.
(6) Von Vasielewski, *Centralblatt für Bakteriol.*, XXI, 1897, p. 901.
(7) Bossalino, *Archivio per le scienze mediche*, XXII, 1898, p. 273.
(8) Musso, *Recherches sur le parasite de la vaccine*. Montpellier, Firmin et Montane, 1899.
(9) Salmon, *Annales de l'Institut Pasteur*, XI, 1897, p. 289.
(10) London, *Journ. de la Soc. russe pour l'hygiène publique*, 1898 (en russe).
(11) Ferroni et Massari, *Riforma medica*, II, 1893, p. 602. — *Bollettino dell' Accademia Gioenia di Catania*, XL, 1895
(12) Hückel, *Ziegler's Beiträge zur pathol. Anatomie*, Supplement-Heft, 1898.

déclare expressément (1) qu'il y a des corps non-vacciniques semblables *par la forme et par la position* aux corps vacciniques, ressemblance sur laquelle les partisans de la théorie parasitaire ne s'étaient point prononcés. On comprend cependant comment ceux qui soutiennent l'identité des deux espèces de corps, c'est-à-dire ceux qui soutiennent la non spécificité des corpuscules vacciniques, tels que Ferroni, Massari et London, semblent avoir beau jeu.

Pour ma part, j'ai fait des expériences de contrôle, inoculant sur la cornée du Lapin les substances suivantes : 1° de la glycérine pure et dilulée ; 2° les principales Bactéries contenues dans le vaccin ; 3° du vaccin rendu inactif soit par filtration à travers la bougie Chamberland, soit par la chaleur, dans un bain-marie à 60° C. pendant une heure : 4° du bouillon et des solutions de peptone stérilisées, substances émotropiques ; 5° du virus rabique de rue ; 6° du virus aphteux ; 7° une substance recueillie d'une espèce de pustule qui se développe parfois sur le pis et sur les mamelles des Vaches laitières et qui sont parfois confondues par les éleveurs avec des pustules vaccinales spontanées.

Or, avec tous ces matériaux, même lorsque, comme avec le virus aphteux, j'ai obtenu un nombre assez grand de corpuscules endocellulaires, je n'en ai jamais rencontré un seul qui ressemblât absolument à ce que nous pouvons appeler un *Cytoryctes* typique.

Quels sont donc les caractères distinctifs des *Cytoryctes* typiques ? Voilà la question que je me suis proposé de résoudre.

L'examen détaillé des préparations microscopiques obtenues avec plusieurs qualités différentes de vaccin et appartenant à des foyers d'âge différent, m'a conduit aux résultats qui suivent :

Ni les propriétés morphologiques seules, ni les réactions colorantes ne peuvent servir à caractériser les *Cytoryctes*, car ni les unes ni les autres ne présentent rien de spécifique ni de constant. J'ai pu ainsi me rendre compte des contestations qui existent parmi les auteurs sur les caractères de structure et de coloration attribués aux *Cytoryctes*, et j'ai pu reconnaître que ces caractères peuvent être interprétés de plusieurs manières. Ce qu'il y a de typique et de constant dans les *Cytoryctes* ou du moins dans un grand nombre de ces corpuscules auxquels convient précisément

(1) Hückel, *loco citato*, p. 122-125.

le nom de *Cytoryctes* typiques, c'est un ensemble de particularités qu'il est très difficile de décrire, mais qui peuvent être facilement reconnues à l'aide du microscope par un œil exercé. Nous pouvons les réunir sous la qualification de *rapports de forme et de position des Cytoryctes avec les noyaux épithéliaux*, et nous pouvons dire que les *Cytoryctes* deviennent caractéristiques alors qu'ils acquièrent des rapports avec les noyaux épithéliaux. Quand ces rapports font défaut, je ne saurais rien indiquer qui permette d'établir une différenciation entre un *Cytoryctes* et un corpuscule endo-cellulaire et non-vaccinique quelconque.

Ces rapports se manifestent par plusieurs faits, dont je me bornerai à indiquer ici les plus généraux.

1° La plupart des *Cytoryctes* sont placés à proximité des noyaux ;

2° La zone claire péricytoryctique apparaît bien des fois en continuation soit avec la périphérie nucléaire soit avec une zone claire périnucléaire.

3° Les *Cytoryctes* et les noyaux se moulent réciproquement : tantôt c'est le noyau qui reçoit le *Cytoryctes* dans une niche, tantôt c'est le *Cytoryctes* qui se courbe autour du noyau, tantôt les deux corps se regardent avec deux surfaces planes, etc. ; d'où résultent les formes les plus diverses de *Cytoryctes* correspondant à autant de formes ou difformités diverses des noyaux épithéliaux. Il est curieux cependant de voir cette empreinte subsister même quand les deux corps ne sont pas contigus, mais séparés par l'interposition de la zone claire. Nous verrons plus loin comment on peut expliquer ce fait et aussi d'autres particularités relatives aux rapports des *Cytoryctes* avec les noyaux ; pour le moment, je me borne à déclarer que ces rapports de forme et de position impriment aux *Cytoryctes* un certain lien avec les noyaux qui fait absolument défaut quand il s'agit de corpuscules non-vacciniques, même lorsqu'ils sont à proximité des noyaux et qu'ils les dépriment légèrement.

Rapports entre les *Cytoryctes* et les corpuscules endonucléaires. — Après avoir reconnu les signes caractéristiques des *Cytoryctes*, relativement à leurs rapports avec les noyaux, je fixai mon attention sur certaines formes nucléaires, que j'ai observées dans les foyers vacciniques cornéens, pour étudier si on pouvait établir certaines relations entre elles et les *Cytoryctes*.

Je laisse de côté toutes ces formes de caryocinèse plus ou moins typiques qu'on rencontre en grand nombre, surtout dans le voisinage des foyers vacciniques, et qui sont évidemment destinées à remplacer par des éléments nouveaux les éléments détruits par le processus pathologique, en donnant ainsi de nouveau raison à ce qui a été démontré par l'Ecole italienne (1), à savoir que les tissus lésés ont la faculté de se régénérer moyennant des mitoses, qui apparaissent spécialement à une certaine distance du point d'irritation.

Je passe aussi sous silence les noyaux gonflés, allongés, globuleux, étranglés en forme de biscuit ou de sablier, courbés en C, multiformes (pl. III, fig. 5, *b*), les noyaux multiples et composés, (pl. II, fig. 1, *d*), parfois de dimensions énormes, amassés l'un sur l'autre ou réunis en chaîne, comme s'il résultait d'un bourgeonnement continuel. Toutes ces formes, qui appartiennent spécialement aux foyers initiaux, indiquent une hyperactivité nucléaire.

Mais les figures nucléaires, que je crois opportun de mettre en relief ici, consistent essentiellement en noyaux qui présentent dans leur intérieur un ou plusieurs amas de substance chromatique, placés tantôt à la périphérie à la façon de bourgeons plus ou moins saillants, tantôt dans la partie centrale à la façon d'inclusions qui désagrègent plus ou moins le noyau.

La saillie des bourgeons peut devenir telle qu'il semble qu'on assiste à la sortie d'une masse chromatique hors du noyau; la désagrégation du noyau peut être poussée jusqu'à sa destruction presque complète. A sa place on trouve un ou plusieurs corps chromatiques. Il est curieux de remarquer que ces inclusions sont souvent entourées d'une zone claire, à l'instar de ce que l'on rencontre quand il s'agit de *Cytoryctes*. Les figures ci-jointes rendront plus claire cette description très succincte.

Dans les figures 1, *a*, *b*, *c*, *d*; 2, *a*, *b*, *c*; 5, *16*, nous voyons des noyaux qui sont pourvus de bourgeons de différentes dimensions, depuis les plus petits (fig. 5, *16*) jusqu'aux plus gros (fig, 2, *a*). Il y en a quelques-uns qui sont entourés d'une zone claire (fig. 1, *a*, *b*, *d*; 2, *c*). Dans le groupe cellulaire de la figure 6, nous avons

(1) Bizzozero, *Centralblatt für die med. Wissenschaften*, IX, 1886, p. 81. Recherches de Canalis, Di Mattei, Foà, Golgi, Mondino, Rattone, Tizzoni, etc.

différents exemples de corps chromatiques qui semblent sur le point de sortir hors de leurs noyaux respectifs.

Dans les figures 2, *e*; 5, *14*, *15*; 3, *a*, nous voyons des noyaux pourvus d'inclusions plus ou moins entourées par une zone claire. La figure 4 représente un noyau qui est sur le point d'être détruit, autour d'une grande inclusion; on peut y voir le fragment nucléaire qui se trouve isolé entre les extrémités du noyau qui a la forme d'un fer à cheval.

Si maintenant nous considérons que ces bourgeons et ces inclusions, que nous pouvons désigner sous le nom de *corps endo-nucléaires*, se trouvent entremêlés aux *Cytoryctes* proprement dits, qui apparaissent au dehors des noyaux, il me semble possible d'identifier les uns et les autres. On peut objecter à une telle identification, qui est encore plus admissible quand on pense aux rapports de forme et de position existant entre les *Cytoryctes* et les noyaux épithéliaux, que les corps endo-nucléaires sont en grande minorité relativement aux *Cytoryctes* extra-nucléaires.

A ce propos cependant, je dois faire observer tout d'abord, que, si les corps endo-nucléaires ne sont pas nombreux, ils sont pourtant constants; en effet, si dans l'examen des préparations, au lieu de mettre au point les *Cytoryctes*, on observe attentivement les noyaux épithéliaux, on en rencontre toujours un certain nombre qui sont pourvus de bourgeons ou d'inclusions.

En second lieu, je dois ajouter que le nombre des corps endo-nucléaires varie selon les cas et qu'il y a des foyers dans lesquels ils sont très nombreux (pl. III, fig. 5). En général je les ai trouvés d'autant plus abondants que les foyers étaient plus jeunes. Enfin, je me crois permis de penser que souvent la situation extra-nucléaire des *Cytoryctes* n'est qu'apparente.

En voici les raisons :

Comme je l'ai déjà dit plus haut, bien des fois la zone claire entourant le *Cytoryctes* se continue avec la périphérie nucléaire ou avec une zone claire péri-nucléaire. Cela permet de se demander si les *Cytoryctes* doivent être considérés plutôt comme endo-nucléaires que comme extra-nucléaires. Ainsi, dans la figure 5, on voit à côté des *Cytoryctes* avec zone indépendante (*1*) des *Cytoryctes* avec une zone qui se continue avec la périphérie nucléaire (*2*) ou avec la zone péri-nucléaire (*3*, *4*). En outre, dans la même figure, nous

avons des exemples de *Cytoryctes* situés complètement dans la zone péri-nucléaire (*5* à *10*); de sorte que, si après ces formes nous examinons celles qui sont figurées aux numéros *11*, *12* et *13*, nous nous trouvons vis-à-vis d'un passage graduel des *Cytoryctes* extra-nucléaires aux corps complètement endo-nucléaires (*14* et *15*).

Mais ce qui justifie encore davantage notre doute, c'est l'observation des préparations par raclage, chez lesquelles les rapports entre les différents éléments sont plus sûrement conservés que sur des coupes.

Examinons par exemple la figure 3, qui représente une préparation par raclage, fixée avec le sublimé acétique et colorée avec l'hématoxyline de Delafield, comme s'il s'agissait d'une coupe. Dans cette figure, nous observons des corps chromatiques pourvus d'une zone claire autour de laquelle existe de la substance nucléaire qui est en continuation avec le noyau correspondant (pl. II. fig. 3, *b*, *c*, *d*, *e*, *f*); la situation intra-nucléaire de ces corps est donc manifeste. On comprend cependant, que si ces résidus périphériques très exigus de substance nucléaire étaient encore plus minces, ou s'ils étaient moins colorés, ou comme il peut arriver par la méthode des coupes, s'ils avaient perdu leurs rapports, ces corps chromatiques auraient pu apparaître tout-à-fait extra-nucléaires. En outre, entre les *Cytoryctes* et les corps endo-nucléaires, il existe d'autres points de rapprochement dans les particularités suivantes :

1° J'ai observé que les *Cytoryctes*, même avec le même procédé de coloration et dans la même préparation, ne se colorent pas toujours, ni tous, avec une intensité égale; tantôt ils apparaissent plus colorés, tantôt moins colorés que les noyaux épithéliaux. Je m'explique ainsi les contestations existant parmi les auteurs à propos des propriétés chromophiles des *Cytoryctes*. Or, le même fait se vérifie parmi les corps endo-nucléaires (pl. II, fig. 1, 2, 3; pl. III, fig. 5). Dans les trois premières figures, ils sont plus fortement colorés que les noyaux; dans la figure 5, au contraire, ils sont moins fortement colorés que les noyaux.

2° Il arrive bien souvent de rencontrer des *Cytoryctes* pourvus d'un ou de plusieurs petits noyaux, ou constitués par un protoplasme à structure radiée ou filamenteuse. Les auteurs qui soutiennent la théorie parasitaire assignent à ces particularités la valeur de caractères morphologiques qui montrent la nature parasitaire des

Cytoryctes. Or, il en est de même des corps endo-nucléaires, ainsi que l'attestent les corpuscules à structure radiée (pl. III, fig. 6, *a* et *b*), l'inclusion binuclée (pl. III, fig. 4).

M'appuyant sur tous les faits précédents, je suis amené à penser que réellement les corps endonucléaires doivent être confondus avec les *Cytoryctes*, c'est-à-dire, qu'ils sont de même nature. Cette conclusion permet d'avancer les deux hypothèses suivantes sur la nature des *Cytoryctes* :

1° Ou bien les *Cytoryctes* sont le produit d'une altération nucléaire, bourgeonnement ou fragmentation, qui serait caractérisée essentiellement par la tendance d'une portion du noyau à s'isoler sous forme de corpuscules d'abord endo-nucléaires puis extra-nucléaires, qui auraient la faculté de s'accroître et de devenir le centre de ces formes ressemblant à des cellules, qu'on rencontre dans les foyers de vaccine à côté des *Cytoryctes* ;

2° Ou bien les *Cytoryctes* sont des parasites qui, contrairement à ce qu'on a admis jusqu'ici, ne se bornent pas à ronger le cytoplasme, mais envahissent aussi le noyau des cellules épithéliales.

Une autre voie que j'ai suivie pour arriver à éclaircir la nature des *Cytoryctes*, m'a été suggérée par l'observation des rapports des inclusions cellulaires des tumeurs malignes.

Rapports des inclusions cellulaires vacciniques avec les inclusions cellulaires des tumeurs malignes. — Il y a déjà longtemps que Guarnieri, L. Pfeiffer et Clarke ont décrit dans les foyers vacciniques cornéens un certain nombre d'inclusions cellulaires différentes des *Cytoryctes* proprement dits, et ils les interprétaient comme des phases de développement des parasites supposés. Des études ultérieures ont cependant conduit Guarnieri et L. Pfeiffer à les considérer comme des produits de désagrégation des *Cytoryctes*. Von Wasielewski cite aussi quelques-uns de ces cas, mais il n'est pas certain de leur signification. Hückel décrit une foule d'inclusions cellulaires, mais il les attribue, comme les *Cytoryctes*, à une maladie du cytoplasme. Les autres auteurs ne s'occupent point de ces autres inclusions.

Pour ma part, j'ai pu me convaincre de leur présence, surtout par la méthode de raclage, car elles se trouvent spécialement dans les parties les plus superficielles de l'épithélium atteint, c'est-à-dire

dans les parties qui vont successivement en se décollant par un processus ulcératif et qui, avec la méthode des coupes, sont souvent perdues dans les différentes manipulations et dans les différents liquides de passage.

L'aspect de ces inclusions cellulaires est des plus divers et des plus irréguliers ; il y en a qui ressemblent à des cellules à développement normal, d'autres qu'on prendrait pour des cellules abortives, initiales, ou dégénérées, avec des noyaux fragmentés, etc. En les considérant en bloc, je dirai qu'elles rappellent les inclusions trouvées dans les tumeurs malignes; quelques-unes même les reproduisent fidèlement. Ces inclusions soulèvent encore des discussions dans leur interprétation parmi les observateurs les plus estimés. J'ajouterai que certaines formes de *Cytoryctes* particulièrement parmi les *Cytoryctes* plus gros, peuvent être considérées comme des phases de passage à ces inclusions ; et que, vice-versa, certaines de ces inclusions peuvent être considérées comme des *Cytoryctes* autour desquels s'est formé un manteau protoplasmique.

Ce qui est aussi digne d'être noté, c'est que justement ces *Cytoryctes* à manteau reproduisent parfaitement l'aspect de certaines inclusions qui ont été décrites dans les cancers.

Il serait donc curieux de savoir si dans les cancers on a trouvé aussi des formes semblables aux *Cytoryctes* typiques. Autant que je sache, aucun auteur n'en parle, excepté Foà (1) qui, dans un cas de cancer de la mamelle, rencontra des corps paranucléaires « qui rappellent beaucoup les corps décrits par Guarnieri comme les parasites de la vérole ».

Comparaison entre l'infection vaccinique et l'infection mycétozoique de la cornée. — Encouragé par les analogies qui existent entre les inclusions cellulaires vacciniques et celles des tumeurs malignes, et aussi par la considération que dans les foyers vacciniques, comme dans le cancer, il se produit une prolifération épithéliale active et anormale, je me suis proposé d'essayer l'inoculation cornéenne des microorganismes auxquels les différents auteurs pensent pouvoir attribuer les tumeurs malignes.

Parmi ces microbes se trouvent, comme on le sait, les *Mycetozoa* ou *Myxomycètes*. Récemment Podvisotzky (2) a annoncé, dans

(1) Foà, *Archivio per le scienze mediche*, XVII, 1893, p. 266
(2) Podwyssotzki, *Centralblatt für Bakteriol.*, XXVII, 1. Abt., 1900, p. 97.

une note préliminaire, à la Société de médecine de Kiev, qu'il a réussi à produire des tumeurs expérimentales chez les Cobayes et les Lapins, au moyen de l'inoculation sous-cutanée et intrapéritonéale de *Plasmodiophora brassicae*. Ce Myxomycète, découvert par Voronin en 1873, fut considéré comme étant la cause de la hernie ou du goître des Choux, et étudié dernièrement plus à fond par Navashin (1).

Les matériaux qui ont servi pour mes expériences, m'ont été fournis gracieusement par le Laboratoire cryptogamique italien de Pavie, qui, à différentes reprises, a mis à ma disposition plusieurs échantillons de racines herniées de Chou, dans lesquelles l'examen microscopique révéla la présence du *Mycetozoon* sporulé. Le tissu malade a été extirpé avec tous les soins aseptiques convenables, de la partie centrale des nodules, délayé dans la glycérine neutre diluée au tiers, et fut ensuite inoculé dans la cornée du Lapin.

Le résultat de ces expériences exécutées et répétées avec différents échantillons, me permettent d'énoncer les faits suivants :

1° A la suite de l'inoculation cornéenne de *Plasmodiophora brassicae* sporulée, on remarque un processus qui, macroscopiquement, ressemble jusqu'à un certain point, à celui qui est produit par le vaccin.

En effet, en premier lieu, dans l'infection plasmodiophorique, comme dans l'infection vaccinique, l'altération macroscopique de la cornée peut être divisée en deux phases, qui sont : 1° proéminences plus ou moins relevées ; 2° ulcérations plus ou moins enfoncées, correspondant aux points d'inoculation.

En second lieu, le processus plasmodiophorique, comme le processus vaccinique, s'achève sans manifestations d'inflammation.

Une différence notable existe cependant dans la durée du processus ; tandis que dans le processus vaccinique on arrive à l'ulcération d'ordinaire au bout de trois jours, dans le processus plasmodiophorique je n'ai jamais observé l'ulcération avant le vingtième jour.

2° A l'observation microscopique, le processus plasmodiophorique se différencie complètement du processus vaccinique.

Tandis que, dans ce dernier, on observe une prolifération rapide

(1) Navaschin, *Flora*, LXXXVI, 1899, p. 404.

de l'épithélium cornéen; dans l'autre, on remarque une prolifération très lente du connectif cornéen, pendant laquelle l'épithélium antérieur ne se montre point intéressé, au contraire la blessure épithéliale produite par l'inoculation se cicatrise, et l'épithélium reprend son état normal. C'est seulement ensuite que, vraisemblablement à cause de l'accroissement progressif de la tumeur connectivale, l'épithélium se consume successivement et finit par s'ulcérer. Grâce à cette ulcération, l'épithélium se laisse facilement exfolier, de sorte qu'il est possible de faire des préparations par raclage, comme j'ai coutume de le faire pour les cornées inoculées avec du vaccin.

3° L'altération cornéenne produite par *Plasmodiophora*, de même que l'altération vaccinique peut être reproduite par transplantation de Lapin à Lapin.

4° Un morceau de Chou hernié, conservé dans la glycérine neutre diluée au 1/3 à la température ambiante pendant 41 jours (du 11 avril au 22 mai 1900), contient des spores de *Plasmodiophora* encore d'aspect normal et reproduit par inoculation cornéenne l'altération ci-dessus décrite.

On peut donc dire qu'entre *Plasmodiophora brassicae* et l'agent encore inconnu du vaccin existent les analogies suivantes :

α) Ces deux organismes, inoculés dans la cornée, sont capables d'y produire un processus de prolifération, qui n'est pas accompagné de phénomènes inflammatoires et que l'on peut transporter de cornée à cornée ;

β) Tous deux conservent leur activité après un séjour dans la glycérine.

5° Quant aux inclusions cellulaires, je puis dire qu'aussi bien à l'intérieur qu'en dehors des cellules du tissu néoformé j'ai trouvé le *Mycetozoon* à différents stades ; mais je n'ai jamais rencontré de formes analogues aux *Cytoryctes vaccinae* Guarnieri.

Cependant j'ai observé des phases de développement de la *Plasmodiophora* qui me font soupçonner que si les corpuscules vacciniques étaient des parasites, ceux-ci au moins dans une phase de leur évolution, ne seraient pas représentés par le *Cytoryctes* seul, mais par le *Cytoryctes* plus la zone claire, qui l'enveloppe; en d'autres termes, cette zone claire ne serait point une niche creusée par le *Cytoryctes* dans le cytoplasme ou bien dans le noyau, mais

elle appartiendrait au *Cytoryctes* même, et ferait partie de la structure du parasite.

Cette supposition est appuyée par ce fait que dans certaines de mes préparations de foyers vacciniques, la périphérie de la zone claire entourant les *Cytoryctes* est limitée par un anneau coloré tantôt en totalité, tantôt avec quelques interruptions (pl. III, fig. 5, *c*, *h*, *g*, *1*, etc.). Or, si l'on part du principe de Guarnieri que la zone claire représente une niche, il faut admettre que la coloration périphérique de cette zone doit être attribuée à une condensation du cytoplasme ou à des résidus du noyau épithélial autour de la niche. Au contraire, d'après l'hypothèse mentionnée, l'anneau coloré indiquerait la paroi extérieure du parasite. Cela est encore plus vraisemblable puisque dans mes préparations la coloration périphérique de la zone apparaît même quand le *Cytoryctes* se trouve dans un espace claire périnucléaire, comme le montre la figure 5 ; en pareil cas il ne me semble pas possible d'interpréter la zone claire péricytoryctique ni comme une niche protoplasmique, car on ne voit pas de cytoplasma autour, ni comme une niche nucléaire, car l'anneau coloré périzonal apparaît distinct du noyau épithélial ; mais on est amené à penser que soit l'anneau coloré périphérique, soit le *Cytoryctes* appartiennent, avec la zone claire, à un seul et même corps.

Les deux faits suivants parlent aussi en faveur de cette hypothèse : tout d'abord la disproportion qu'on observe souvent entre le volume du *Cytoryctes* et l'ampleur de la zone claire environnante (*Cytoryctes* très gros entouré par une zone claire très étroite ; *Cytoryctes* petit au milieu d'une zone claire très large), puis la correspondance qui le plus souvent existe entre la forme de la niche et celle du *Cytoryctes*, même lorsque celui-ci se présente sous la forme d'un biscuit, d'une haltère, d'une poire, d'un sablier, d'une raquette, d'un battant de cloche, etc. Ces deux faits s'expliquent beaucoup mieux en admettant que la zone claire est quelque chose qui entre dans la composition du *Cytoryctes*, plutôt qu'une niche creusée par le *Cytoryctes* même.

En outre, cette hypothèse m'a permis d'expliquer, même avec la théorie parasitaire, certains faits qui autrement me conduisaient plutôt à reconnaître dans les *Cytoryctes* la manifestation d'une altération nucléaire. Voilà quelques-uns de ces faits : 1° en général

la dépression du noyau épithélial n'est pas proportionnée au volume du *Cytoryctes* correspondant, mais elle est plus grande et, au contraire, proportionnée à la dimension de la zone claire du *Cytoryctes*; 2° dans certains cas dans lesquels la zone claire a une forme un peu différente de celle du *Cytoryctes*, la forme de la niche présentée par le noyau épithélial correspond plutôt à la forme de la zone claire qu'à celle du *Cytoryctes;* 3° la dépression du noyau subsiste même alors que le *Cytoryctes* se trouve non pas contigu au noyau, mais éloigné de celui-ci par l'interposition de la zone claire; 4° il y a des noyaux épithéliaux qui se montrent profondément enfoncés par un, deux et parfois plusieurs *Cytoryctes*, et néanmoins ils ne présentent ni condensation de leur substance, qui montre une structure normale et envoie des cloisons parfois très minces entre un *Cytoryctes* et l'autre, ni déplacement, ni autre déformation, à part celle qui est liée à la présence des niches, de telle sorte que les noyaux semblent rongés, creusés, ne correspondant plus aux niches, plutôt que déprimés, comprimés et poussés par les *Cytoryctes*. Or, si l'on admettait que les parasites fussent constitués par le *Cytoryctes* plus la zone claire qui l'entoure, il serait aisé de comprendre : 1° comment certaines niches des noyaux épithéliaux peuvent être simplement apparentes, c'est-à-dire produites par la superposition des parasites partiellement incolores et des noyaux eux-mêmes, qui pourtant ne doivent paraître ni déplacés, ni altérés, ni déformés dans la portion découverte visible; 2° comment les niches, qu'elles soient apparentes ou réelles, doivent correspondre nécessairement quant à leur forme et à leur volume à la zone claire du *Cytoryctes;* 3° comment elles peuvent paraître, même quand le *Cytoryctes* se trouve éloigné du noyau épithélial.

Enfin, cette hypothèse permettrait de considérer comme des formes parasitaires et d'en rapprocher les *Cytoryctes* pourvus d'une zone claire, beaucoup d'autres inclusions cellulaires qu'on rencontrait dans les foyers vacciniques, tels que par exemple :

1° Les *Cytoryctes* entourés par un manteau coloré au lieu de la zone claire.

2° Les *Cytoryctes* rayonnés, c'est-à-dire pourvus de rayons colorés qui atteignent la périphérie de la zone claire.

3° Les corps arrondis, complètement incolores, excepté parfois

à la périphérie, et qui autrement sembleraient être des niches abandonnées par leurs *Cytoryctes* respectifs (fig. 5, *a*).

4° Les corps arrondis, faiblement colorés, tantôt privés de granulations chromatiques, tantôt contenant plusieurs granulations chromatiques, qui sont disposées de différentes manières.

5° Plusieurs autres formes que j'ai déjà indiquées à propos de leur ressemblance avec les inclusions cellulaires rencontrées dans les tumeurs malignes.

En résumé, selon moi, l'hypothèse que la zone claire entourant les *Cytoryctes* Guarnieri n'est point une niche cytoplasmique ou nucléaire, mais qu'elle fait corps avec les *Cytoryctes* mêmes, est soutenue par certains faits et permet d'en expliquer d'autres, même avec la théorie parasitaire, tandis qu'autrement ces faits resteraient obscurs et conduiraient à assigner aux *Cytoryctes* une autre interprétation.

Je dois cependant ajouter tout de suite que cette hypothèse n'exclut pas même la théorie nucléaire, comme je l'ai exposée plus haut, c'est-à-dire que les *Cytoryctes* soient le produit d'une altération nucléaire, qui serait caractérisée par la tendance d'une partie du noyau à s'isoler sous forme de corpuscules endonucléaires puis extranucléaires, qui soient capables de s'accroître et de devenir le centre de formes semblables à des cellules. En effet, même dans ce cas, la zone claire et les *Cytoryctes* pourraient appartenir à un seul et même corps.

Un autre expédient auquel j'ai eu recours pour préciser la signification des *Cytoryctes*, se rapporte à la conservation des *Cytoryctes* dans la glycérine.

Conservation des *Cytoryctes* dans la glycérine. — Dans le cours de mes expériences j'ai pu confirmer ce qui a été affirmé par plusieurs auteurs, que l'altération vaccinique peut être transplantée d'une cornée à l'autre, d'un animal à l'autre.

D'autre part, on connaît bien la propriété de la lymphe vaccinique ordinaire d'être conservée dans la glycérine.

Or, j'ai voulu étudier si ce qu'on peut appeler virus vaccinique cornéen conservait aussi son activité dans la glycérine et quelles modifications survenaient chez les *Cytoryctes* conservés de cette manière.

A cet effet, j'ai râclé l'épithélium des cornées de Lapin au troisième et au quatrième jour de l'inoculation, alors que le contrôle microscopique était positif; j'ai placé le produit du râclage dans de petits tubes stérilisés avec glycérine neutre diluée au tiers, j'ai enduit de paraffine le bouchon de liège et j'ai conservé les tubes dans le réfrigérant, comme on fait avec la lymphe vaccinique ordinaire.

De temps à autre, je prélevai des lambeaux de cette substance, pour en inoculer une partie sur la cornée des Lapins et pour en soumettre une autre partie à l'examen microscopique.

Cette expérience a été répétée plusieurs fois et faite avec une substance conservée jusqu'à 73 jours dans la glycérine.

J'ai vérifié avant tout que le pouvoir de transmissibilité se conserve parfaitement. Quant au sort des *Cytoryctes*, dans les préparations très nombreuses que j'ai faites, soit incolores, soit colorées avec des solutions très diluées de saffranine, d'hématoxyline de Delafield, ou de picrocarmin Ranvier et Bizzozero, j'ai pu constater que, tandis que certains *Cytoryctes* se conservaient tels quels, d'autres se présentaient modifiés de différentes manières, c'est-à-dire devenaient tantôt granulés, tantôt vacuolaires, tantôt transformés en un sac vide, etc.

Certaines de ces figures variées peuvent-elles être considérées comme des formes durables d'enkystement ou de sporulation des supposés parasites? J'avoue que, pour le moment, je ne saurais rien répondre. Ce qu'il y a cependant de certain, c'est qu'aussi parmi les noyaux épithéliaux conservés dans la glycérine, on en voit certains qui gardent leur aspect normal, et d'autres qui sont altérés de la même manière que les *Cytoryctes*.

Conclusion. — Voici maintenant la conclusion que je crois pouvoir tirer de mes études :

Quoique les expédients auxquels j'ai recouru pour tâcher de résoudre la question relative à la nature des corpuscules du vaccin (*Cytoryctes vaccinae* Guarnieri), ne m'aient pas permis d'atteindre mon but, toutefois ils ont servi à mettre en évidence des faits, permettant d'expliquer comment on est amené ou bien à considérer ces corpuscules comme ayant une origine nucléaire, ou à les

considérer comme des parasites, qui envahissent aussi les noyaux des cellules épithéliales et qui, dans une phase de leur développement, sont constitués par les *Cytoryctes*, plus la zone claire qui les entoure.

Toutes les figures appartiennent à des foyers vaccinaux de l'épithélium cornéen du Lapin. Les préparations ont été exécutées soit par râclage, soit par coupes, avec fixation au sublimé acétique et coloration à l'hématoxyline de Delafield. Pour les particularités relatives à la technique des préparations microscopiques, voir mon premier travail, indiqué à la note 1, sur le contrôle du vaccin grâce aux inoculations cornéennes.

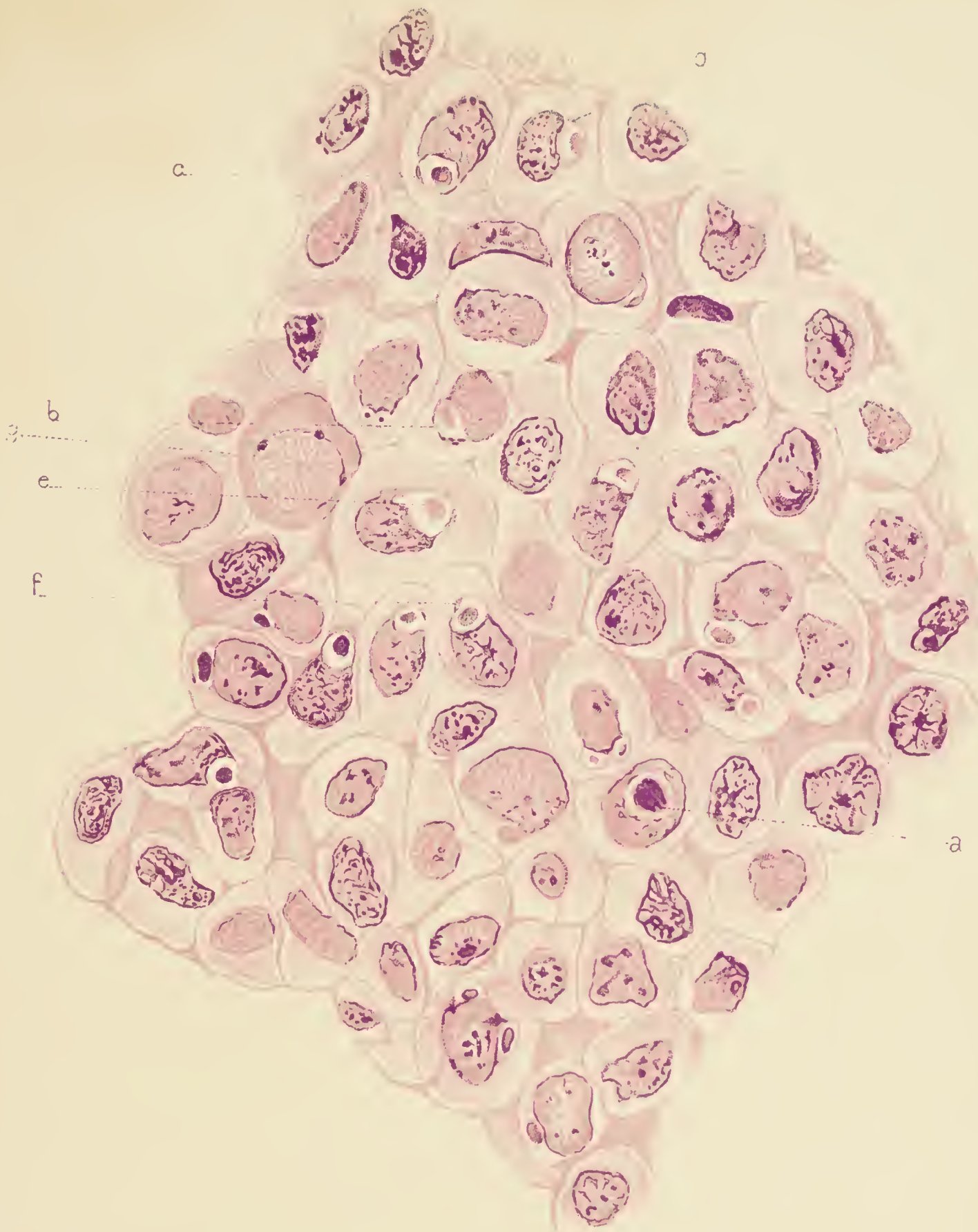

Fig. 3.

Fig. 2.

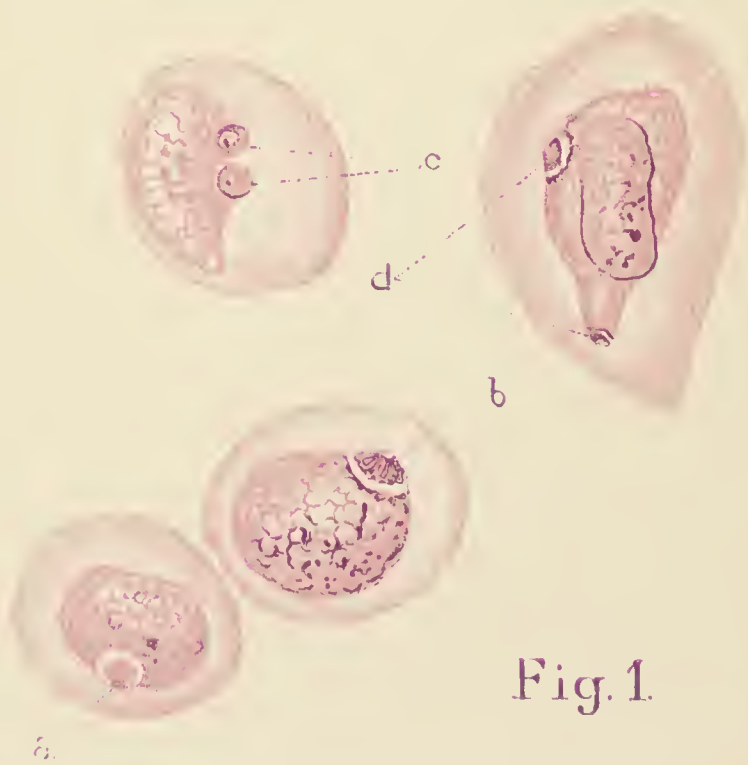

Fig. 1.

ROYAL COLLEGE OF SURGEONS
12 MAY 27
LIBRARY

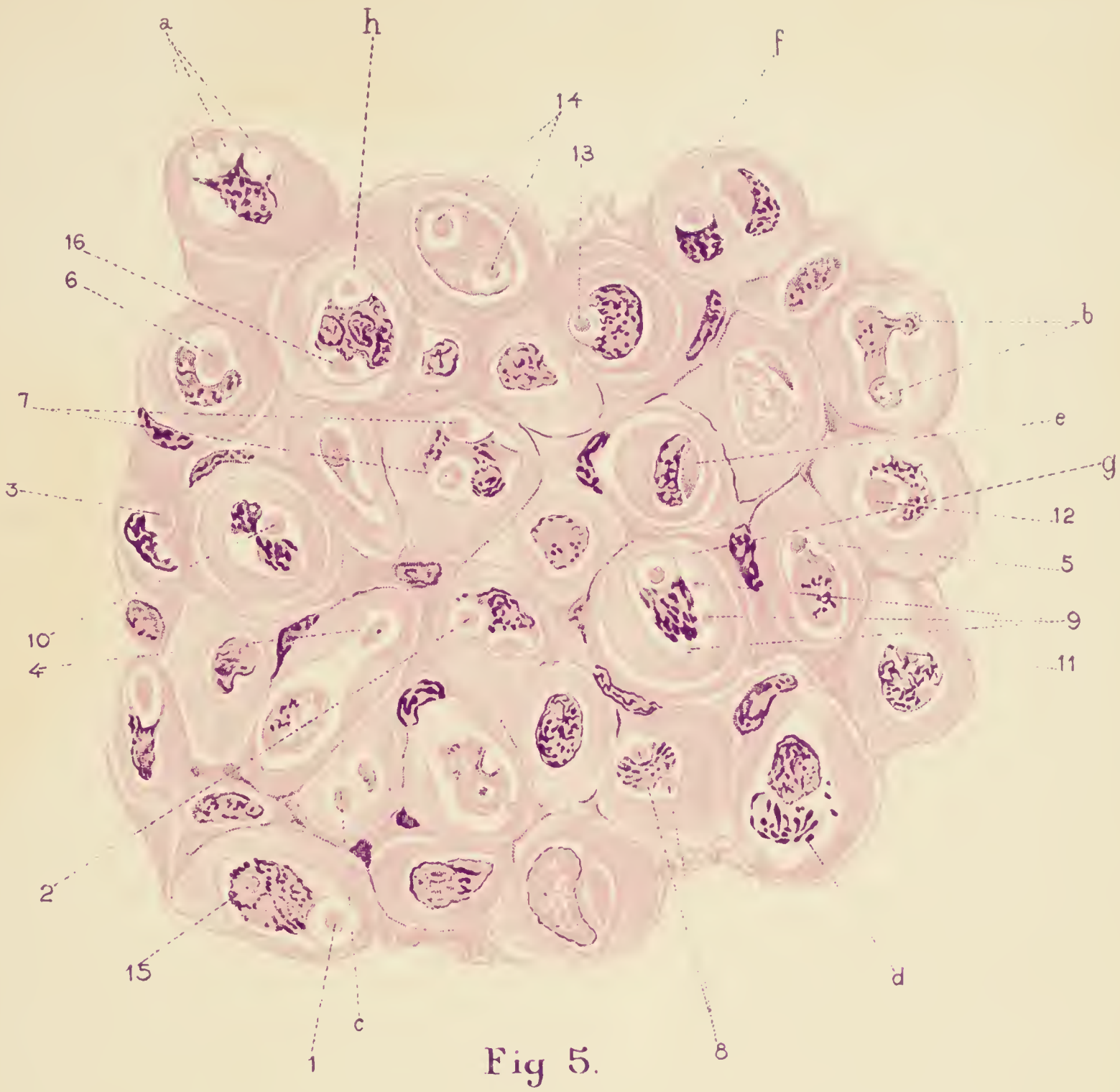

Fig 5.

Fig 4.

Fig. 6.

S OF ENGLAND
12 MAY 27
LIBRARY

ENGLAND
12 MAY 27
LIBRARY

ARCHIVES DE PARASITOLOGIE

RÉDACTION : *15, rue de l'École-de-Médecine*, PARIS

ABONNEMENT :

Paris et Départements : **30** fr. — Union postale : **32** fr.

Les *Archives de Parasitologie* publient des mémoires originaux écrits dans l'une ou l'autre des cinq langues suivantes : français, allemand, anglais, espagnol et italien. Les auteurs de mémoires en langues étrangères doivent, autant que possible, FOURNIR UN TEXTE DACTYLOGRAPHIÉ (*écrit à la machine*), afin de réduire les corrections au minimum.

Ce texte doit être conforme aux règles suivantes :

1° On appliquera strictement les règles de la nomenclature zoologique ou botanique adoptées par les Congrès internationaux de zoologie et de botanique ;

2° On fera usage, tant pour les noms d'auteurs que pour les indications bibliographiques, des abréviations adoptées par ces mêmes Congrès ou par le *Zoological Record* de Londres ;

3° Les noms géographiques ou les noms propres empruntés à des langues qui n'ont pas l'alphabet latin seront transcrits conformément aux règles internationales adoptées par les Congrès de zoologie ;

4° Tout nom d'être vivant, animal ou plante, commencera par une première lettre capitale ;

5° Tout nom scientifique latin sera imprimé en italiques (souligné une fois sur le manuscrit).

Dans l'intérêt de la publication et pour assurer le maximum de perfection dans la reproduction des planches et figures, tout en supprimant des dépenses inutiles, nos collaborateurs sont priés de se conformer aux règles suivantes :

1° Dessiner sur papier ou sur bristol bien blanc.

2° Ne rien écrire sur les dessins originaux.

3° Toutes les indications (lettres, chiffres, explication des figures, etc.) seront placées sur un calque recouvrant la planche ou le dessin.

4° Abandonner le plus possible le crayon à la mine de plomb pour le crayon Wolf ou l'encre de Chine.

Les Auteurs d'articles insérés aux *Archives* sont instamment priés de renvoyer à M. le Dr J. GUIART, Secrétaire de la rédaction, *dans un délai maximum de huit jours*, les épreuves corrigées avec le manuscrit ou l'épreuve précédente.

Ils recevront gratis 50 tirés à part de leur article. Ils sont invités à faire connaître sans délai s'ils désirent en recevoir un plus grand nombre (50 au maximum), à leurs frais et conformément au tarif ci-dessous. Ce tarif ne vise que l'impression typographique ; il ne concerne point les planches, dont le prix peut varier considérablement. Toutefois, il importe de dire que, pour les exemplaires d'auteurs, les planches seront comptées strictement au prix de revient. Les tirés à part ne peuvent être mis en vente.

TARIF DES TIRÉS A PART

	25 ex.	50 ex.
	—	—
Une feuille entière	5f50	7f20
Trois quarts de feuille	4 75	6 25
Une demi-feuille	4 »	5 10
Un quart de feuille	3 40	4 50
Un huitième de feuille	2 55	3 40
Plusieurs feuilles . . . . . La feuille	5 35	6 90

Le Secrétaire de la Rédaction, Gérant :

Dr J. GUIART.

LILLE. — Imp. LE BIGOT Frères.